

**P2-12.****腫瘍微小環境のCO<sub>2</sub>による抗癌剤耐性とその機序**

(東京医科大病院呼吸器内科)

○菊池 亮太、辻 隆夫、山口佳寿博  
阿部 信二

(茨城：東京医科大学茨城医療センター内科（呼吸器）)

岩井 悠希、中村 博幸、青柴 和徹

【緒言】腫瘍微小環境ではCO<sub>2</sub>濃度が正常組織よりも高いが（～98 mmHg）、高CO<sub>2</sub>が腫瘍細胞や抗癌剤の感受性に与える影響はこれまで報告されていない。CO<sub>2</sub>は長年、アシドーシス作用以外の生物活性はないと考えられてきたが、最近の研究では高CO<sub>2</sub>がアシドーシスとは関係なく、正常細胞のさまざまな細胞機能に影響することが注目されている。今回、私たちは腫瘍微小環境で増加したCO<sub>2</sub>が抗癌剤の感受性に影響するのではないかと考えて実験を行った。

【方法】肺癌細胞（A549細胞、H1299細胞）を培養し、5%（35 mmHg）、10%（70 mmHg）、15%（105 mmHg）のCO<sub>2</sub>環境下で抗癌剤（シスプラチン、カルボプラチン、エトポシド）に曝露し、細胞の生存率を測定した、さらにアポトーシス、DNA損傷反応、解糖系代謝、酸化的リン酸化、活性酸素種の産生などを評価した。

【結果】A549細胞およびH1299細胞を高CO<sub>2</sub>（～15%）下で培養したところ、アシドーシスとは無関係に、抗癌剤に対する感受性が低下し、各抗癌剤曝露によるアポトーシスはCO<sub>2</sub>濃度依存性に抑制された。高CO<sub>2</sub>は抗癌剤によるDNA障害反応（ $\gamma$ H2AX → ATM/ATR → p53 → Bax）や熱ショック蛋白の産生には影響しなかったが、解糖系代謝とミトコンドリアの酸化的リン酸化を抑制し、ミトコンドリアからの活性酸素種の産生を減少させて、抗癌剤によるアポトーシスを抑制した。その機序として、高CO<sub>2</sub>が電子伝達系を抑制し、ミトコンドリアの膜電位とO<sub>2</sub>消費量を減少させる経路が明らかにされた。

【考察】高CO<sub>2</sub>は解糖系代謝とミトコンドリア機能を調節することにより、癌細胞のアポトーシスを抑制した。以上の結果から、抗癌剤耐性機序に腫瘍微

小環境の高CO<sub>2</sub>が関与する可能性が示唆された。CO<sub>2</sub>は肺癌を進行させるシグナル分子であり、肺癌の新たな治療標的となる可能性が考えられた。

**P2-13.****乳がん細胞におけるミトコンドリアダメージにより誘導されるBRCA1の新規分解機構の解析**

(生化学分野)

○高野 直治、山田裕美子、風間 宏美  
徳久 真弓、日野 浩嗣、平本 正樹  
宮澤 啓介

(乳腺科)

宮原 か奈、石川 孝

(分子病理)

藤田 浩司、黒田 雅彦

(医学教育)

Edward Barroga

(ナノ粒子先端医学応用)

半田 宏

BRCA1はDNAの相同組換え修復に働き、遺伝性乳がん卵巣がん症候群の原因遺伝子としても知られている。一方、PINK1、Parkinはミトコンドリアの品質管理に関わり、これら遺伝子変異により若年性パーキンソン病を発症する。今回我々は、乳がん細胞株に各種ミトコンドリア阻害剤を処理すると、核内タンパク質であるBRCA1が分解され、同時にDNAの2本鎖切断のマーカーである $\gamma$ H2AXの発現レベルが上昇することを見出した。これらミトコンドリア阻害剤によるBRCA1分解は、PINK1上昇に連動して、ユビキチン・プロテアソーム系にて起こること、また、PINK1遺伝子をノックアウト（KO）することにより、BRCA1の分解が抑制されることを明らかとした。さらに、PINK1により活性化されるE3 ligaseのParkinを過剰発現させることでBRCA1分解が促進されることを見出し、BRCA1とParkinの各種変異体により両分子間の直接相互作用および両分子間結合ドメインを同定した。

PINK1-Parkin-BRCA1分解系の生物学的意義を検討するためBRCA1をKDしたところ、細胞増殖が抑制され、逆にPINK1 KO細胞ではBRCA1発現量が増加し細胞増殖も亢進した。次に、乳がん組織におけるBRCA1、PINK1、Parkinの発現をデータベー

ス解析、及び免疫組織染色により検討したところ、正常乳腺組織に比べ、乳がん組織で BRCA1 発現が上昇し、PINK1・Parkin 発現が減少し、生命予後との相関も認めた。これより、乳がん細胞では BRCA1 発現を増やし PINK1 発現を抑制することで腫瘍増殖に有利な環境を作っていると考えられる。

以上より、PINK1-Parkin-BRCA1 軸を介したミトコンドリア—核間における新規シグナル伝達機構を見出し、また、BRCA1 の「がん遺伝子」としての予想外の機能を示すことができた。

#### P2-14.

### 肺癌における LMO2 (LIM domain only 2) 発現と予後の関連

(呼吸器・甲状腺外科)

○濱中和嘉子、嶋田 善久、萩原 優  
垣花 昌俊、梶原 直央、大平 達夫  
池田 徳彦

目的：LIM domain only 2 (LMO2) は癌の発生に関与する癌遺伝子であり、今までに複数の固形癌で予後と関連することが報告されているが、その機序は明らかではない。また腫瘍によって発現の影響が異なっており、例えば diffuse large B cell lymphoma や膵臓癌では予後良好な因子として、前立腺癌では遠隔転移に関連する予後不良因子として報告されている。今回、肺癌における LMO2 発現と予後の関連を検討する。

対象および方法：2013年に原発性肺癌で外科的切除を行った225例のうち、非定型的切除（部分切除）および術前治療を行った症例は除外し、さらに免疫染色が追加可能であった153症例を対象とした。男性88/女性65例、年齢（中央値）68歳、喫煙率64%、平均腫瘍径2.7cm、肺葉切除142/区域切除10/片肺全摘1例、腺癌118/扁平上皮癌25例/その他13例、病理病期I期10/II期23/III期以上22例であった。LMO2の発現は免疫組織学的に評価した。腫瘍細胞の染色率が10%未満を陰性、10%以上を陽性とし、臨床背景や再発および予後との関連を統計学的に解析した。

結果：LMO2陽性症例は13例（8.5%）。臨床背景では病理学的に高分化型の症例でLMO2の発現率が有意に高かった（ $p=0.011$ ）。予後因子について

の多変量解析では病理分化度（ $p=0.001$ ）のみが残りLMO2の発現（ $p=0.438$ ）は予後に寄与しなかった。5年生存率はLMO2陽性群で92.3%、陰性群で83.5%と差を認めなかった（ $p=0.45$ ）。しかし再発率はLMO2陽性群で7.7%、陰性群で27.1%と有意な差ではないものの（ $p=0.138$ ）、LMO2陽性症例で再発率が低めの傾向があった。

まとめ：肺癌ではLMO2の発現は予後因子とはならないが、再発率が低い傾向があり、今後症例を集積して詳細に検討を行いたい。

#### P2-15.

### 抗寄生虫薬の抗がん剤としてのリポジショニングの可能性について

(医学部医学科4年)

○小川 雅人、鈴木 堯  
(大学院修士課程1年)

宮崎 誠也  
(生化学分野)

風間 宏美、平本 正樹、宮澤 啓介

＜目的＞肺がんは死亡数が最も多いがんであり、新薬開発件数は比較的多いものの、その治療満足度は依然として低い。また、5年生存率が最も低い膵がんは、切除適応外となることが多いため、化学療法の役割が大きいにもかかわらず、現状の化学療法の効果は極めて限定的である。本研究では、適応拡大やドラッグ・リポジショニングを念頭に、抗寄生虫薬の抗腫瘍効果および、分子標的や適応が異なる各種キナーゼ阻害薬との併用効果について検討した。

＜方法＞抗寄生虫薬として、メベンダゾール（鞭虫症）、アルベンダゾール（包虫症）、フルベンダゾール（動物用）を検討した。キナーゼ阻害薬には、マルチキナーゼ阻害薬ソラフェニブ（腎細胞がん等）、BRAF阻害薬ベムラフェニブ、ダブラフェニブ（ともに悪性黒色腫）、HER2阻害薬ラパチニブ（乳がん）を用いた。まず、肺がん細胞株A549に対して抗寄生虫薬を添加し、細胞増殖、オートファジー、小胞体ストレス、細胞死形態について解析した。メベンダゾールについては、各種キナーゼ阻害薬との併用効果についても検討を行った。また、膵がん細胞株でも同様の解析を進行中である。

＜結果・考察＞抗寄生虫薬3種ともに、A549細胞